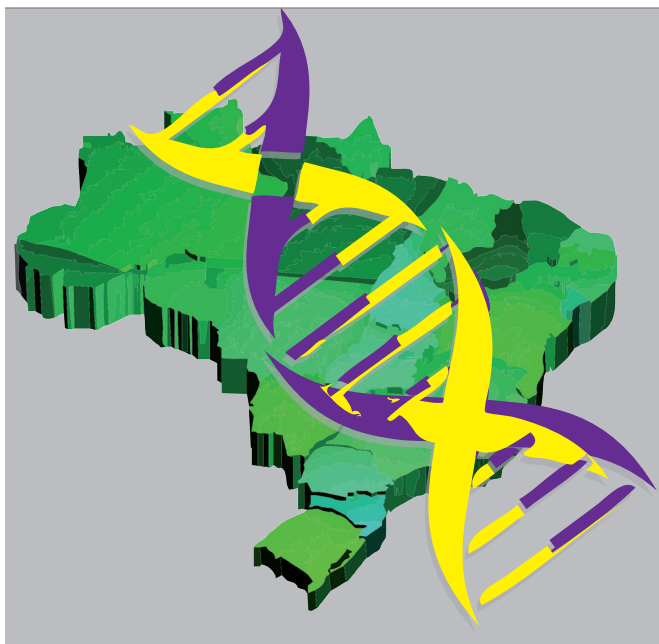


Ilustração: Gabriel Gomes De Sousa



## Detecção de Eventos Geneticamente Modificados Não Autorizados no Brasil por PCR em Tempo Real

Edna Maria Morais Oliveira<sup>1</sup>  
Tatiane Corrêa de Oliveira<sup>2</sup>  
Felipe Vítório Ribeiro<sup>3</sup>  
Ivanilda Santos de Lima<sup>4</sup>  
Thiago Ferreira dos Santos<sup>5</sup>

### Introdução

A detecção de eventos não autorizados de organismos geneticamente modificados (OGM) em alimentos processados representa um grande desafio de análise, porque os dados da sequência de DNA necessária para detectá-los geralmente não estão disponíveis (CANKAR et al., 2008). Plantas geneticamente modificadas (também conhecidas como transgênicas) e seus derivados são amplamente utilizados na preparação de rações animais. Cerca de 600 milhões de toneladas são preparadas a partir de grãos transgênicos. Diante das liberações comerciais e da legislação de rotulagem, que prevê a informação no rótulo do produto que contiver mais de 1% de OGM autorizado, o desafio é desenvolver métodos de detecção de OGM que possam acompanhar a liberação comercial crescente de novos eventos no mercado mundial que, em algum momento,

chegarão ao mercado brasileiro. Entretanto, isso só é possível se dados da sequência de DNA específica utilizada na transformação forem disponibilizados pelas empresas que desenvolveram o OGM. Neste sentido, é necessário o frequente acesso a bancos de informações para a coleta de dados sobre as ferramentas de detecção de OGM, bem como a métodos validados internacionalmente. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real vem sendo muito empregada para detectar OGM, permitindo sua detecção mesmo em baixas concentrações, por ser uma técnica de alta sensibilidade e especificidade (CORBISIER et al., 2005; BARROS; OLIVEIRA; MARIN, 2008). Dessa forma, este trabalho teve por objetivo a utilização da técnica (PCR em tempo real) para avaliar a presença de eventos de milho e soja geneticamente modificados, que ainda não estão autorizados no mercado brasileiro, em amostras de ração animal (para peixes e roedores).

<sup>1</sup> Engenheira Química, D.Sc. em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, edna.oliveira@embrapa.br

<sup>2</sup> Técnica em Alimentos, assistente da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, tatiane.correa@embrapa.br

<sup>3</sup> Graduando em Química Industrial, bolsista do CNPq-Brasil, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro RJ, vitorioch@gmail.com

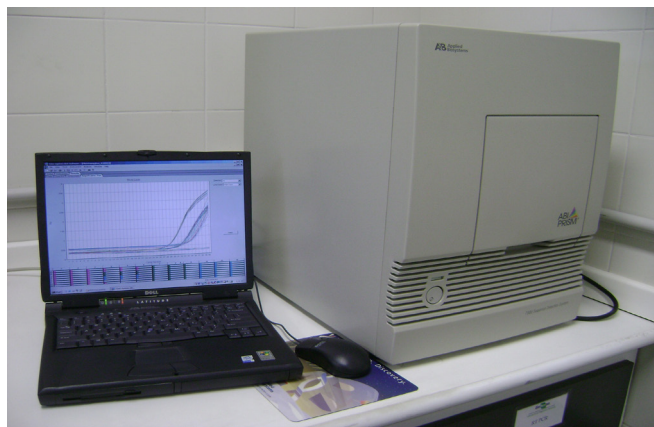
<sup>4</sup> Nutricionista, bolsista do CNPq-Brasil, Rio de Janeiro, RJ, ivanildalima@gmail.com

<sup>5</sup> Biólogo, bolsista do CNPq-Brasil, mestrando da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, thfsctaa@gmail.com

## Material e Métodos

Amostras de três tipos diferentes de ração animal foram adquiridas em comércio local de forma aleatória, tratadas e analisadas em dez replicatas. A extração e purificação do DNA genômico foi realizada usando o método CTAB (brometo de cetil trimetil amônio), para posterior detecção através do sistema TaqMan®, utilizando-se o equipamento ABI PRISM® SDS 7000 (Applied Biosystems) (Figura 1). Os kits utilizados para detecção dos eventos de milho GM foram: GMIdent RT IPC Event MON 863, DAS 59122-7 e MIR 604; para a soja GM o kit utilizado foi o MON 89788 (Eurofins). Para a condução da PCR em Tempo Real, foram usados 50 ng de DNA como molde e os kits supracitados, com volume final de 25 µL. A reação foi iniciada com 10 min a 95°C para desnaturação e separação das fitas do DNA molde; seguida de 45 ciclos de 95°C por 15 segundos, 60°C por 90 min para anelamento e extensão da sequência específica de DNA de cada evento GM.

Foto: Edna Maria Moraes Oliveira



**Figura 1.** Equipamento ABI PRISM® SDS 7000 (Applied Biosystems) instalado no Laboratório de Diagnóstico Molecular da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

## Resultados e Discussão

Após amostragem, seguida por homogeneização e moagem, o DNA foi isolado com sucesso. A quantificação de DNA e a pureza foram determinadas por absorvâncias a 260 nm e 280 nm (WEIGHARDT et al., 2004) (Tabela 1).

O rendimento de extração, [DNA] isolado, não foi elevado para a amostra 2, devido ao nível de processamento para a sua produção. No entanto, a qualidade do DNA isolado dos três tipos de rações analisados foi suficiente para a condução da PCR (Tabela 1).

**Tabela 1.** Pureza do DNA isolado das amostras de ração.

| Amostra | Pureza      | Faixa de [DNA]  |
|---------|-------------|-----------------|
|         |             | ng/µL           |
| 1       | 1,75 ± 0,20 | 110,16 a 280,71 |
| 2       | 1,62 ± 0,10 | 29,63 a 46,11   |
| 3       | 1,22 ± 0,41 | 86,32 a 112,26  |

As curvas de amplificação de todas as subamostras apresentaram a sequência do *taxon* gene tanto para milho quanto para soja. As curvas de amplificação das sequências dos eventos não autorizados foram detectadas em algumas amostras de ração (Tabela 2).

As reações, tendo como alvo a sequência específica de cada evento GM, apresentaram resultados positivos para o milho MON 863. Após nova subamostragem e novas reações realizadas, confirmou-se a presença de milho GM, evento MON 863.

**Tabela 2.** Eventos geneticamente modificados não autorizados detectados nas diferentes amostras de ração animal.

| Amostra/<br>Evento | MON<br>863 | MIR<br>604 | MON<br>89788 | DAS 59122-7 |
|--------------------|------------|------------|--------------|-------------|
| 1                  | +          | -          | -            | -           |
| 2                  | +          | -          | -            | -           |
| 3                  | +          | -          | -            | -           |

+: detectado; -: não detectado

## Conclusão

O único evento geneticamente modificado detectado nas amostras analisadas foi o milho MON 863. Considerando que se trata de um evento não autorizado no Brasil, é necessário um maior rigor no monitoramento dos produtos comercializados e industrializados à base de milho. Neste sentido, conclui-se que a técnica de PCR em Tempo Real se mostra eficiente para detecção de eventos geneticamente modificados não autorizados e pode ser usada no controle e fiscalização de produtos brasileiros.

## Referências

BARROS, N. E. F. de; OLIVEIRA, E. M. M.; MARIN, V. A. Aplicabilidade da metodologia de reação de polimerase em cadeia em tempo real na determinação do percentual de organismos geneticamente modificados em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 85-92, jan./fev. 2008.

CANKAR, K.; CHAUVENSY-ANCEL, V.; FORTABAT, M.-N.; GRUDEN, K.; KOBILINSKY, A.; ZEL, J.; BERTHEAU, Y. Detection of nonauthorized genetically modified organisms using differential quantitative polymerase chain reaction: application to 35S in maize. **Analytical Biochemistry**, v. 376, n. 2, p. 189-199, May 2008.

CORBISIER, P.; TRAPMANN, S.; GANCBERG, D.; HANNES, L.; VAN-IWAARDEN, P.; BERBEN, G.; SCHIMMEL, H.; EMONS, H. Quantitative determination of Roundup Ready soybean (Glycine max) extracted from highly processed flour. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 383, n. 2, p. 282-290, Sept. 2005.

WEIGHARDT, F.; BARBATI, C.; PAOLETTI, C.; QUERCI, M.; KAY, S.; DE BEUCKELEER, M.; VAN DEN EEDE, G. Real-time PCR based approach for quantification of the pat gene in the T25 Zea Mays event. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 87, n. 6, p. 1342-1355, 2004.

## Comunicado Técnico, 190

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria de Alimentos**  
**Endereço:** Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba  
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ  
**Fone:** (0XX21) 3622-9600  
**Fax:** (0XX21) 3622-9713  
**Home Page:** <http://www.ctaa.embrapa.br>  
**E-mail:** [ctaa.sac@embrapa.br](mailto:ctaa.sac@embrapa.br)

**1ª edição**

1ª impressão (2013): tiragem (20 exemplares)

## Comitê de Publicações

**Presidente:** Virgínia Martins da Matta  
**Membros:** André Luis do Nascimento Gomes,  
Daniela De Grandi Castro Freitas, Leda Maria Fortes  
Gottschalk, Luciana Sampaio de Araújo, Ilana Felberg,  
Marília Penteado Stephan, Michele Belas Coutinho,  
Renata Torrezan

## Expediente

**Supervisão editorial:** Daniela De Grandi C. Freitas  
**Revisão de texto:** Janine Passos Lima da Silva  
**Normalização bibliográfica:** Luciana S. de Araújo  
**Editoração eletrônica:** André Luis do N. Gomes,  
Gabriel Gomes de Sousa e Marcos Moulin